

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成17年度採択分

平成20年 3月31日現在

研究課題名（和文）有機・無機相互作用解析によるバイオミネラリゼーションの制御機構の解明
研究課題名（英文）Regulation mechanism of biomineralization based on interaction between organic matrices and inorganic crystals
研究代表者
氏名 長澤 寛道 (Hiromichi Nagasawa)
所属研究機関・部局・職 東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



推薦の観点：創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：生物が作る無機物質（バイオミネラル）は骨や貝殻など生物にとって極めて重要であるが、その形成機構は不明な点が多い。バイオミネラルには少量の有機物が含まれ、これがバイオミネラル形成の鍵を握っている。この有機物の構造と機能及びバイオミネラルとの相互作用を解析することにより、バイオミネラル及びそれを含む硬組織の形成機構を解明する。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：生物活性物質

1. 研究開始当初の背景

(1) 単細胞生物から人類などの高等生物まで生体は無機物質を形成する機能（バイオミネラリゼーション）を有している。しかし、そのメカニズムは生命科学あるいは無機化学の知識・手法だけで解明することは困難である。

(2) 生物が作る無機物質（バイオミネラル）には少量の有機物（有機基質）が含まれており、これがバイオミネラリゼーションを制御していると考えられてきたが、その詳細はまだ明らかではない。

2. 研究の目的

(1) 有機基質と無機物質の間の相互作用を解析することにより、バイオミネラルの形成機構を解明することを目指す。

(2) 本研究分野は生命科学と無機化学・物質科学の境界領域である。これまで、このような組み合わせの研究領域はなかった。本研究は両分野の研究者の参画により、新しい研究領域を創成することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 天然のバイオミネラルおよび人工合成した無機物質の形成状態を電子顕微鏡等で解析し、バイオミネラリゼーションによる無機物質の構造的特徴を明らかにする。

(2) さまざまなバイオミネラルから機能性有機基質を抽出・精製・構造解析する。また、

有機基質をコードする cDNA をクローニングし、時期・部位特異的発現を明らかにする。

(3) *in vitro* で基質タンパク質存在下に炭酸カルシウム過飽和溶液からの固相析出を行い、その物質の構造的特徴を明らかにする。

(4) 有機基質の構造機能相関を石灰化と他の有機基質との相互作用の観点から明らかにする。

(5) 魚類の鱗の再生系を用いて *in vivo* での石灰化制御機構を明らかにする。

4. これまでの成果

(1) 電子後方散乱回折により、円石藻のココリスを構成する炭酸カルシウムの結晶方位をはじめ詳細に調べ、それがココリスに接している有機基質（ベースプレート）によって制御されていると推定した。

(2) アメリカザリガニの外骨格から新規可溶性ペプチド2種、アコヤガイの貝殻の真珠層から新規タンパク質2種、キンギョの鱗から新規タンパク質2種、ニジマスの耳石からタンパク質8種、円石藻のココリスから酸性多糖1種をそれぞれ単離し、構造解析した。そのうちのいくつかについては、遺伝子をクローニングし、部位特異的発現解析を行った。

(3) 炭酸カルシウムの結晶多形（カルサイト、アラゴナイト、バテライト、非晶質）は生物・組織によって厳密に決まっている。これはバイオミネラルに含まれる有機基質が誘導することが推定されてきたが、確かな証拠はなかった。われわれはニジマスの耳石

[4. これまでの成果 (続き)]

(アラゴナイト) から2種類のタンパク質を単離することに成功し、その複合体が耳石と同様のアラゴナイト結晶を誘導することを明らかにした。一方、アコヤガイの貝殻の真珠層 (アラゴナイト) から2種類のタンパク質を精製し、その複合体がアラゴナイトを誘導することを見い出した。

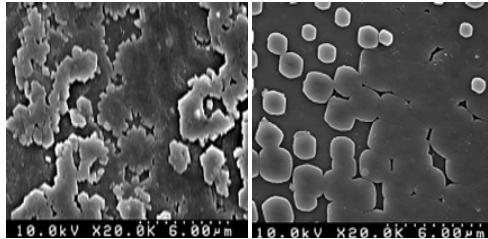


図1 Pif80 の RNAi によるノックダウンによって乱れた真珠層形成。右は正常。

(4) われわれはバイオミネラルに含まれる有機基質が、その機能から3つに分類できることを提唱している (図2)。このうち2) に属する有機基質は多機能性があり、1) の不溶性有機基質に結合するとともに結晶核形成、結晶多形や結晶方位を制御する能力を有する。アメリカザリガニの外骨格由来基質ペプチド CAP-1 は分子中央部にキチンと結合する配列を、C 末端部に酸性アミノ酸残基の集合部を有し、結晶核形成や炭酸カルシウムとの相互作用に重要であることが示唆された。

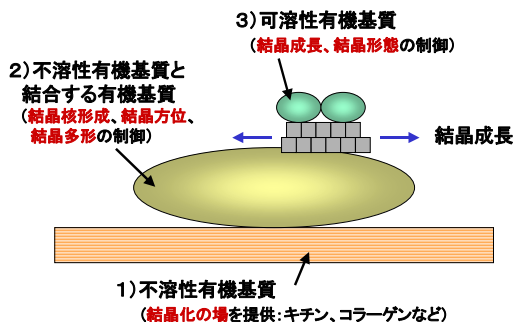


図2 有機基質の機能モデル

(5) リンとカルシウムが不足した環境条件で鱗を再生させると、石灰化が極度に抑制された再生鱗が形成された。この鱗を生理的条件下で培養すると、急速に石灰化が起こり、それが骨質層の高電子密度物質中で起こることを明らかにした。この高電子密度物質の候補としてアポリタンパク質を同定した。

5. 今後の計画

- (1) 天然のバイオミネラルおよび人工作製した同じ無機物質の構造的特徴づけを行う。
- (2) 結晶多形制御活性を有する有機基質を

探索し、構造を明らかにする。

(3) さまざまな有機基質の構造・機能を解析することにより図2のモデルを検証する。

(4) 有機基質の機能解析の一環として構造機能相関を明らかにする。

(5) バイオミネラリゼーションと有機基質の分子進化の関係を明らかにする。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

(1) Tohse H, **Takagi Y** and **Nagasawa H**: Identification of a novel matrix protein contained in a protein aggregate associated with collagen in fish otoliths. FEBS J., 275, 2512-2523 (2008).

(2) Ozaki N, **Sakuda S** and **Nagasawa H**: A novel highly acidic polysaccharide with inhibitory activity on calcification from the calcified scale "coccolith" of a coccolithophorid alga, *Pleurochrysis carterae*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 357, 1172-1176 (2007).

(3) Suzuki M, **Sakuda S** and **Nagasawa H**: Identification of chitin in the prismatic layer of the shell and a chitin synthase gene from the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata*. Biosci. Biotechnol. Biochem., 71, 1735-1744 (2007).

(4) Inoue H, Ohira T and **Nagasawa H**. Significance of the C-terminal acidic region of CAP-1, a cuticle calcification-associated peptide from the crayfish, for calcification. Peptides, 28, 566-573 (2007).

(5) Suzuki M, **Nagasawa H** and **Kogure T**: Synthesis and structure of hollow calcite particles. Crystal Growth and Design, 6, 2004-2006 (2006).

(6) Saruwatari K, Ozaki N, **Nagasawa H** and **Toshihiro K**: Crystallographic alignment of coccolith (*Pleurochrysis carterae*) revealed by electron back-scattered diffraction (EBSD). Amer. Mineral., 91, 1937-1940 (2006).

(7) Tohse H, Murayama E, Ohira T, **Takagi Y** and **Nagasawa H**: Two isoforms of carbonic anhydrase in rainbow trout: differential expression and function in otolith biomineralization. Comp. Biochem. Physiol. A, 145, 257-264 (2006).

(8) Murayama E, Herbolmel P, Kawakami A, Takeda H and **Nagasawa H**: Otolith matrix proteins, OMP-1 and Otolin-1, are necessary for normal otoliths growth and their correct anchoring onto the sensory maculae. Mech. Develop., 122, 791-803 (2005).

他 12 編

(受賞なし)

ホームページ等 :

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/gakujutsubiom/index.html>